

---

## 8. Anhang

### 8.1. Verzeichnis gängiger Abkürzungen

A	Adenosin
°C	Grad Celsius
AICD	Activation-induced cell death (Aktivierungsinduzierter Zelltod)
AK	Antikörper
APP	Amyloid precursor Protein
C	Cytosin
CD	cluster of differentiation
CD95	auch Fas, Molekül, Mitglied der TNF Superfamilie
cDNA	komplementäre DNA
CFA	komplettes Freudsches Adjuvans
DAB	3'-3' Diaminobenzidin-tetrahydrochlorid Chromogen für histologische Färbung
DD	Todesdomäne
DED	Todeseffektordomäne
DISC	Tod-induzierender Signalkomplex
DNA	Desoxyribunukleinsäure
DR5	TRAIL Rezeptor 2
EAE	experimentelle autoimmune Enzephalomyelitis
EBS	EAE associated behavioral syndrome
FADD	"Fas-Associated Death Domain Protein"
FAM	Fluoreszenzfarbstoff 6-Carboxy-Fluorescein Sondenfarbstoff für die real time PCR Technik
FLIP	FLICE inhibitory protein
G	Guanin
GAPDH	Glycerinaldehyd-3-phosphatdehydrogenase
gld Mäuse	generalized lymphoproliverative disease, homozygot für eine Mutation im Fas Liganden, zeigen eine lymphoproliverative Erkrankung
HE	Hämatoxylin Eosin Färbung
HLA	human leucocyte antigen
i.p.	intraperitoneal

---

IFN	Interferon
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
kb	Kilobasen
kDa	Kilodalton
lpr Mäuse	homozygot für Mutation im Gene, das für den Fas Rezeptor kodiert und zeigen komplexe immunologische Funktionsstörungen mit generalisierter Lymphadenopathie und ein dem humanen Lupus erythematodes ähnliches Krankheitsbild
M	molar
MBP	basisches Myelinprotein
MHC	Haupthistokompatibilitätskomplex
MOG	Myelin Oligodendrozyten Glykoprotein
MS	Multiple Sklerose
NGF	Nerv Growth Factor
PBS	phosphate buffered saline Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung
PCR	Polymerase Ketten Reaktion
PLP	Proteolipidprotein
PTX	Pertussistoxin
RNA	Ribonucleinsäure
ROX	6-Carboxy-Rhodamin
rpm	Umdrehungen pro Minute
s.c.	subkutan
T	Thymidin
TAMRA	Fluoreszenzfarbstoff (6-Carboxy-Tetramethylrhodamin) Sondenfarbstoff für die real time PCR Technik
TNF	Tumornekrosefaktor
TRADD	TNF-Rezeptor assoziiertes Protein mit "death domain"
TRA	TNF related apoptosis inducing Ligand ein mit TNF verwandter apoptoseinduzierender Ligand
ZNS	Zentralnervensystem
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
µM	Mikromolar

## 8.2. Verwendete Geräte und Materialien

Die im Kapitel Methoden aufgeführten Materialien sind soweit nicht dort bereits erwähnt mit ihrer Bezugsquelle aufgeführt :

### Geräte und Materialien

96 well Platten	Applied Biosystems (ABI), Branchburg, NJ, USA
Deckgläschen	Merck, Darmstad Merck, Darmstad, Deutschland
Einmal Kanülen Sterican 100	Braun, Melsungen, Deutschland
Filterpipetten	Greiner Labortechnik (Frickenhausen)
Lichtmikroskop	Leica, Heidelberg, Germany
Magnetrührer/ Heizplatte IKAMAG RH	Ika Labortechnik, Deutschland
Objektträger	Merck, Darmstad, Deutschland
Optische Folien	Applied Biosystems (ABI), Branchburg, NJ, USA
Reaktionsgefäße (Safe Lock Tubes versch. Größen)	Eppendorf AG, Hamburg Deutschland
Spritzen	Braun, Melsungen, Deutschland
Taqman Gerät (ABI-Prism 7700 SDS)	Applied Biosystems (ABI), Branchburg, NJ, USA
Thermocycler (Eppendorf Mastercycler Gradient)	Eppendorf AG, Hamburg Deutschland
Thermomixer (Eppendorf 5436)	Eppendorf AG, Hamburg Deutschland
UV-Photometer DU640	Beckman Instruments GmbH, München
Vibratom	Shandon Pittsburgh, Pennsylvania
Vortex (Vortex Genie 2™)	Bander& Hobein AG, Schweiz
Waage (für Mäuse) Kern 440	Ika Labortechnik, Deutschland
Waage(für Chemikalien) PM 4800 Delta Range	Mettler, Gießen, Deutschland
Zentrifugen Eppendorf Centrifuge 5417R und 5804	Eppendorf AG, Hamburg Deutschland
Glucose 5%	Braun, Melsungen, Deutschland
CFA	Difco, Detroit, USA
Glasspritzen	Hamilton, Bonaduz, Schweiz
Ketamin	Curamed, Karlsruhe
Mäuse	Charles- River, Sulzfeld, Deutschland
Mycobacterium tuberculosis	Difco, Detroit, USA
Peptid PLP	PLP 139–151 (Reinheit >95%; Pepceuticals,Leicester, UK)
Pertussistoxin	List Biological laboratories , Campbell, California USA
Xylazinhydrochlorid 2%	Bayer, Leverkusen
RT Kit	Applied Biosystems (ABI), Branchburg, NJ, USA

## 8.2. Verwendete Geräte und Materialien

---

Mastermix	Eurogentec, Belgien
Primer (Sequenzen siehe unten)	TIB MOLBIOL , Berlin
Sonden (Sequenzen siehe unten)	Eurogentec, Belgien
Antikörper	
- gegen APP	R&D Systems (rat anti mouse)
- gegen aktivierte Caspase 3	R&D Systems (rat anti mouse)
Sekundärantikörper	R&D Systems (goat anti rat)
ABC Lösung	ABC-Elite, Vector Laboratories, Burlingame, California
Agarose	Merck, Darmstadt, Deutschland
Chloroform	Merck, Darmstadt, Deutschland
Diaminobenzidin (DAB)	Sigma, Deisenhofen, Deutschland
DNase/RNase freies Wasser	GIBCO,Invitrogen, Eggenstein Deutschland
Eosin	Merck, Darmstadt, Deutschland
Etallan	Merck, Darmstadt, Deutschland
Ethanol	Merck, Darmstadt, Deutschland
Ethidiumbromid	Roche, Mannheim
Hämatoxylin	Merck, Darmstadt, Deutschland
Isopropanol	Merck, Darmstadt, Deutschland
Kresylviolett	Merck, Darmstadt, Deutschland
Kryoprotektionslösung: 30% Ethylenglycol, 25% Glycerol in PBS gelöst	Merck, Darmstadt, Deutschland
LFB	Merck, Darmstadt, Deutschland
Lithiumcarbonat	Merck, Darmstadt, Deutschland
Normales Kaninchenserum	Vector, Burlingame, USA
Normales Ziegenserum	Vector, Burlingame, USA
Paraformaldehyd	Merck, Darmstadt, Deutschland
PBS	GIBCO,Invitrogen, Eggenstein Deutschland
RNA clean	HYBAID, London, UK
Triton X-100	Sigma, München, Deutschland
Wasserstoffperoxide H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Merck, Darmstadt, Deutschland
Xylol	Merck, Darmstadt, Deutschland

### **Primers und Probes**

Dargestellt sind die Sequenzen der Primer und Sonden (Probes) die Sonden wurden am 3'Ende mit TAMRA und am 5' Ende mit FAM markiert.(näheres siehe Kapitel Methoden)

GAPDH Forward Primer: 5' CTCAACTACATGGTCTACATGTTCCA 3'

GAPDH Reverse Primer: 5' CCATTCTCGGCCTTGACTGT TAMRA 3'

GAPDH Probe: 5'FAM TGACTCCACTCACGGCAAATTCAACGT TAMRA 3

TRAIL Forward Primer: 5'GATCACTCGGAGAAGCAACTC A 3'

TRAIL Reverse Primer: 5'GAGAGGACTCCCAGGATTCAATC 3'

TRAIL Probe: 5'FAM CAATCTCCAAGGATGGAAAGACCTTAGGCCA TAMRA 3 '

DR5 Forward Primer: 5'TGCAAACCAGGCACCTTTG 3'

DR5 Reverse Primer: 5'TCTTCCCCGTCAGTGCAGTT '

DR5 Probe: 5'FAM AGACTCCCCTGAGATCTGCCAGTCATGCT TAMRA 3

CD95 Forward Primer: 5'FAMAAGTGCTGGAAAAGGAGACAGG 3'

CD95 Reverse Primer: 5'GATTTGAGGCATTCATTGGTATGG 3'

CD95 Probe: 5'TGACCCTGAATCTAGAACCTCCAGTCGTGAA TAMRA 3 '

CD95L Forward Primer: 5'AGGAGTGTGGCCCATTTAACAG 3'

CD95L Reverse Primer: 5'AGAGCGGTTCCATATGTGTCTTC 3'

CD95L Probe: 5'FAM CCACTCAAGGTCCATCCCTCTGGAATG TAMRA 3

### **8.3. Danksagung**

Mein aufrichtiger Dank gebührt allen Personen, die durch direkte oder indirekte Unterstützung zum Gelingen dieser Promotion beigetragen haben.

An erster Stelle sei Frau Prof. Dr. med. F. Zipp erwähnt, die mir durch Überlassung des Themas, die Möglichkeit der Mitarbeit in ihrer Arbeitsgruppe und durch ihre Beratung und Betreuung das Gelingen dieser Arbeit ermöglichte.

Nicht weniger Dank schulde ich Herrn Dr. med. O. Aktas für seine fachliche Anleitung und persönliche Betreuung.

Besonders danke ich Dr. med. J. Dörr für die Unterstützung bei den tierexperimentellen Arbeiten und für die sorgfältige Korrektur des Manuskripts.

Mein Dank gilt im Besonderen auch Dr. rer. nat. T. Prozorowski für die hervorragende Unterstützung bei den Expressionsanalysen.

Danken möchte ich auch Herrn Prof. Dr. med. R. Nitsch und Frau Jacqueline Mahlo aus der AG Zell- und Neurobiologie des Institut für Anatomie der Charité für die Kooperation bei den immunhistologischen Experimenten.

Weiter möchte ich mich bei allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Instituts für Neuroimmunologie für das freundliche Arbeitsklima, die fachliche Unterstützung und die vielen anregenden Gespräche bedanken.

Ganz herzlich möchte ich mich auch bei meiner Familie, insbesondere bei meinen Eltern bedanken, die durch ihre Unterstützung einen sehr großen Anteil am Gelingen dieser Arbeit haben.

Ich danke allen Freunden die diese Arbeit auf die eine oder andere Art beflügelt haben, vor allem Denis Chaimow, der immer zur Stelle war und mich mathematisch, „informatisch“ und moralisch unterstützt hat und Daniel Zeise für die gründliche Korrektur des Manuskripts und die wertvollen Hinweise.

## 8.4. Lebenslauf

persönliche Daten	16.06.1978 geboren in Bernau
Ausbildung	1985– 1991 Besuch der Leonid- Semjonowitsch- Dainiljuk Oberschule in Bernau 1991- 1998 Besuch des Paulus Praetorius Gymnasium Bernau 06/1998 Abitur 04/1999 Beginn des Studiums der Humanmedizin an der Humboldt Universität Berlin 04/2001 ärztliche Vorprüfung 06/2001 Beginn der wissenschaftlichen Mitarbeit und Promotion im Institut für klinische Neuroimmunologie bei Frau Prof. Dr. F. Zipp 04/2002 1. Staatsexamen 08/2003- 08/2004 studentische Hilfskraft in der Abteilung für HIV Epidemiologie am Robert Koch Institut Berlin 04/2004 2. Staatsexamen Abschluss der Experimentellen Untersuchungen für die Dissertation und Ausarbeitung des Manuskripts 08/2004 Beginn der Ausbildung im Praktischen Jahr seit 03/06 wissenschaftlicher Mitarbeiter Charite Campus Buch, Abteilung Hämatologie, Onkologie, Tumorimmunologie, Leiter Prof. Dr. med. B. Dörken
klinische Erfahrungen	02- 04/2003 Famulatur im Sushma Koirala Memorial Hospital, Sankhu (Kathmandu), Nepal 04/2003-05/2003 Famulatur im Childrens Hospital, Montreal, Kanada Abteilung für Hämatologie und Onkologie bei Prof. P. Kavan 04/2004 vierwöchiger Studienaufenthalt in der Gachon medical school, Inchon, Korea (finanziert durch den DAAD)

## 8.7. Publikationen

Inhalte der vorliegenden Arbeit wurden unter folgenden Titeln veröffentlicht

Diestel, A., Aktas, O., Hackel, D., Hake, I., **Meier, S.**, Raine, C.S., Nitsch, R., Zipp, F., und Ullrich, O. (2003). Activation of microglial poly(ADP-ribose)-polymerase-1 by cholesterol breakdown products during neuroinflammation: a link between demyelination and neuronal damage. *J.Exp.Med.* 198, 1729-1740.

Aktas, O.; Smorodchenko, A.; Brocke, S.; Infante-Duarte, C.; Topphoff, U.S.; Vogt, J.; Prozorovski, T.; **Meier, S.**; Osmanova, V.; Pohl, E.; Bechmann, I.; Nitsch, R.; Zipp, F. (2005) Neuronal damage in autoimmune neuroinflammation mediated by the death ligand TRAIL *Neuron* 46;421-432

Dorr, J.; Roth, K.; Zurbuchen, U.; Deisz, R.; Bechmann, I.; Lehmann, T.N.; **Meier, S.**; Nitsch, R.; Zipp, F. (2005) Tumor-necrosis-factor-related apoptosis-inducing-ligand (TRAIL)-mediated death of neurons in living human brain tissue is inhibited by flupirtine-maleate *J Neuroimmunol.*

**Meier, S.**; Aktas, O.; Prozorowski, T.; Dörr, J.; Smorodchenko, A. Bechmann, I., R. Nitsch, F. Zipp Kinetics of effector mechanisms in the course of chronic neuroinflammation (Manuskript in Vorbereitung)



### **8.7. Erklärung**

„ Ich, Susanne Meier, erkläre an Eides statt, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: Analyse von neuronalem axonalem Schaden und der Expression von Todesliganden im ZNS im Rahmen autoimmuner myelinspezifischer Neuroinflammation selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“